

# **Brazilian Journal of Development**

## **Avaliação de métodos titulométricos para determinação do grau de desacetilação em quitosana**

### **Evaluation of titrimetric methods for determination of deacetylation's degree in chitosan**

DOI:10.34117/bjdv6n1-289

Recebimento dos originais: 30/11/2019

Aceitação para publicação: 27/01/2020

#### **Isadora Atrib Garcia**

Graduanda do Curso de Química Bacharelado

Instituição: Universidade Federal de Pelotas (UFPel)

Endereço: Campus Universitário Capão do Leão, S/N, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos (CCQFA), Prédio 30, Laboratório de Sólidos Inorgânicos (LASIR), Capão do Leão – RS.

E-mail: isadoraatrib@hotmail.com

#### **Adriane Röedel Hirdes**

Mestre em Ensino de Química pela Universidade Federal de Bagé e doutoranda pela Universidade Federal de Pelotas

Instituição: Universidade Federal de Pelotas (UFPel)

Endereço: Campus Universitário Capão do Leão, S/N, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos (CCQFA), Prédio 30, Programa de Pós Graduação em Química (PPGQ), Laboratório de Sólidos Inorgânicos (LASIR), Capão do Leão – RS.

E-mail: adrianerhirdes@gmail.com

#### **Mariana Dupinski Inoue**

Graduanda do curso de Química Bacharelado

Instituição: Universidade Federal de Pelotas (UFPel)

Endereço: Campus Universitário Capão do Leão, S/N, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos (CCQFA), Prédio 30, Laboratório de Sólidos Inorgânicos (LASIR), Capão do Leão – RS.

E-mail: dupinskimari@outlook.com

#### **Aline Joana Rolina Wohlmuth Alves dos Santos\***

Doutora em Química Inorgânica pela Universidade Federal de Santa Maria e Professora Associada na Universidade Federal de Pelotas

Instituição: Universidade Federal de Pelotas (UFPel)

Endereço: Campus Universitário Capão do Leão, S/N, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos (CCQFA), Prédio 30, Professora e orientadora no Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQ), Laboratório de Sólidos Inorgânicos (LASIR), Capão do Leão – RS.

E-mail: alinejoana@gmail.com

**RESUMO**

A quitina é o segundo biopolímero mais abundante depois da celulose, é encontrada nos exoesqueletos de crustáceos, insetos e moluscos, sendo a sua estrutura composta de amino-polissacarídeo linear. A quitosana é um polissacarídeo catiônico, sendo produzido a partir da desacetilação da quitina, caracterizada principalmente pelo grau de desacetilação ( $\overline{GD}$ ) e pelo peso molecular, sendo que esses parâmetros afetam fortemente suas propriedades físico-químicas e biológicas, tais como solubilidade, hidrofiliicidade e cristalinidade. O grau de desacetilação pode ser obtido por titulação potenciométrica e condutivimétrica, sendo empregado basicamente para diferenciar quitina e quitosana, uma vez que a presença de grupos amino na estrutura da quitosana é o indicador que confere a este polímero muitas propriedades específicas. Em virtude disso, esta pesquisa teve como objetivo comparar métodos de titulação já descritos na literatura, para determinar o grau de desacetilação ( $\overline{GD}$ ) de uma amostra de quitosana sintetizada no Laboratório de Sólidos Inorgânicos em comparação com uma amostra obtida comercialmente.

**Palavras Chave:** Titulação, Quitosana, Grau de Desacetilação

**ABSTRACT**

Chitin is the second most abundant biopolymer after cellulose, it is found in the exoskeletons of crustaceans, insects and molluscs, and its structure is composed of linear amino polysaccharide. Chitosan is a cationic polysaccharide, produced from the deacetylation of chitin, characterized mainly by the degree of deacetylation ( $\overline{GD}$ ) and molecular weight, and these parameters strongly affect its physical-chemical and biological properties, such as solubility, hydrophilicity and crystallinity. The degree of deacetylation can be obtained by potentiometric and conductivimetric titration, being used basically to differentiate chitin and chitosan, since the presence of amino groups in the structure of chitosan is the indicator that gives this polymer many specific properties. As a result, this research aimed to compare titration methods already described in the literature, to determine the degree of deacetylation ( $\overline{GD}$ ) of a sample of chitosan synthesized at the Inorganic Solids Laboratory compared to a sample obtained commercially.

**Keywords:** Titration, Chitosan, Degree of Deacetylation

**1 INTRODUÇÃO**

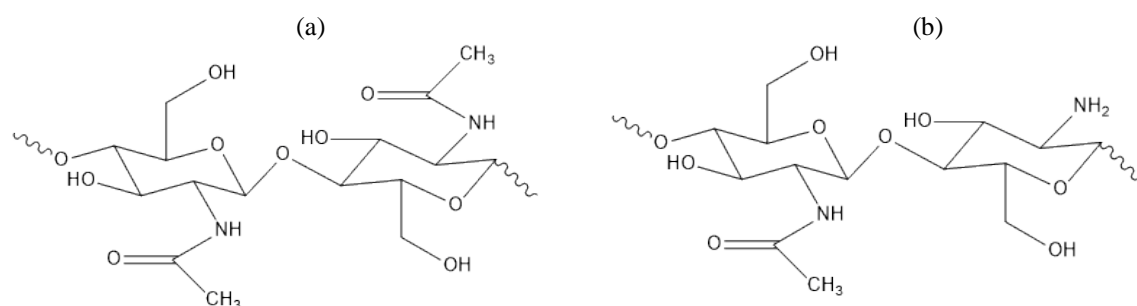
A quitina é o segundo biopolímero mais abundante depois da celulose estando presente nos exoesqueletos de crustáceos, insetos e moluscos. Sua estrutura é insolúvel em soluções aquosas ácidas, básicas e em solventes orgânicos, é composta de amino-polissacarídeo linear consistindo principalmente de unidades  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-2-acetamido-2-desoxi-D-glucopiranosose

(Figura 1a) e quando sofre o processo de desacetilação conduz ao polímero de quitosana (Figura 1b). (EL KNIDRI et al., 2018; KUMARI et al., 2015)

A quitosana é um polissacarídeo linear, solúvel em soluções ácidas, sendo constituído por copolímeros de  $\beta(1\rightarrow4)$ -2-amino-2-desoxi-D-glicopirranose e  $\beta(1\rightarrow4)$ -2-acetoamido-2-desoxi-D-glicopirranose interligadas com composições distintas dependendo do seu grau de desacetilação ( $\overline{GD}$ ) e de sua massa molar viscosimétrica  $M_v$ . (ROBERTS, 1982; YOUNES; RINAUDO, 2015)

A estrutura da quitosana, representada na Figura 1b permite evidenciar a presença de quatro grupos funcionais característicos, grupamentos hidroxila primários e secundários, grupos amino e grupos acetamida. Esses grupos funcionais permitem que a quitosana seja propensa a sofrer modificações químicas e físicas, principalmente pela presença dos grupos amino, que são o diferencial em relação à quitina. (EL KNIDRI et al., 2018; MUXIKA et al., 2017; YOUNES; RINAUDO, 2015).

Figura 1. Estrutura polimérica de quitina (a) e quitosana (b).



A quitosana é caracterizada principalmente pelo grau de desacetilação ( $\overline{GD}$ ) e o massa molecular viscosimétrica ( $M_v$ ), sendo que esses parâmetros afetam fortemente suas propriedades físico-químicas e biológicas, tais como solubilidade, hidrofiliabilidade e cristalinidade (RINAUDO, 2006; ZVEZDOVA, 2010). O grau de desacetilação, a massa molar viscosimétrica e as propriedades funcionais da quitosana variam muito conforme o processo de extração de quitina e síntese de quitosana adotado, bem como conforme a fonte da matéria-prima utilizada (EL KNIDRI et al., 2018; KUMIRSKA et al., 2010).

A Tabela 1 apresenta algumas aplicações da quitosana, que evidenciam sua ampla capacidade de uso, conforme a variação de duas propriedades.

Tabela 1. Ampla variedade de aplicações para a quitosana.

Área	Exemplo de aplicação	Referência
Alimentos	Embalagens, bactericida	(DEMITRI et al., 2016); (HOMEZ-JARA et al., 2018);
Farmacêutico	Fármacos	(MORAN et al., 2018);
Biomaterial	Microesferas	(ZENG et al., 2015)
Têxtil	Nanopartículas	(WANG et al., 2014);
Biomedicina	Suportes poliméricos	(WANG et al., 2016)
Agricultura	Remoção de metais	(GEROMEL-COSTA et al., 2018)
	Defensivo	(ZENG; LUO; TU, 2012)
Cosméticos	Hidrogel	(ESCOBAR-SIERRA et al., 2017)
Industrial	Tratamento de efluentes	(MOHAMMADZADEH PAKDEL; PEIGHAMBARDoust, 2018)
Química	Remoção de metais	(KYZAS; KOSTOGLU, 2015; HUSSEIN et al., 2012)

Quitosana é chamada uma amostra onde a porcentagem de grupamentos amino livres presentes é maior que a de grupamentos acetamida (EL KNIDRI et al., 2018; MUJTABA et al., 2019). Quando o grau de acetilação ( $\overline{GA}$ ) for maior que 50 % o polímero é chamado de quitina, e quando for inferior a 50%, o polímero é chamado quitosana, desde que apresente solubilidade em soluções levemente ácidas. Já para o grau de desacetilação ( $GD$ ) esta relação é inversa, isto é, quitosana apresenta  $GD$  maior que 50 %. (CZECHOWSKA-BISKUP et al., 2012; EL KNIDRI et al., 2018; RINAUDO; MILAS; LE DUNG, 1993; ROY et al., 2017; ABDULKARIM et al., 2013; KUMARI et al., 2015; YOUNES; RINAUDO, 2015)

Amostras de quitosana com grau de desacetilação superior a 50 % apresentam melhor solubilidade em soluções ácidas devido à presença dos grupos amino protonados ( $-NH_3^+$ ) que proporcionam a formação de ligações de hidrogênio com o solvente (ROY et al., 2017; YOUNES; RINAUDO, 2015). O pH da solução e o grau de desacetilação são fatores importantes na solubilidade, pois o composto protona em pH menor que 6,0, quando solubiliza, e desprotona em pH maior que 8,0, quando ocorre a precipitação da quitosana. Logo, quanto maior a quantidade proporcional de grupos amino no polímero, melhor será sua solubilidade. Assim, maiores valores de ( $GD$ ) conferem amostras mais solúveis em meio ácido, ao mesmo tempo em que para se obter maiores valores de ( $GD$ ), condições de síntese mais drásticas são empregadas, o que acarreta em diminuição da sua massa molar viscosimétrica ( $M_v$ ), conforme relata Roy et al., (2017).

A determinação do grau de desacetilação por titulação potenciométrica e condutimétrica são métodos eficazes, simples e de baixo custo. A literatura relata resultados

satisfatórios de determinação do grau de desacetilação obtidos por titulação, desde que a amostra de quitosana a ser titulada sejam totalmente solúvel em solução ácida e que todas as soluções, inclusive a solução básica titulante, sejam previamente padronizadas. (CZECHOWSKA-BISKUP et al., 2012; YOUNES; RINAUDO, 2015)

A literatura relata outros métodos de determinação do grau de desacetilação ( $\overline{GD}$ ), como por Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN  $^1\text{H}$ ), no entanto os autores indicam que não há variação considerável dos dados obtidos por RMN em comparação com dados obtidos por métodos titulométricos (CZECHOWSKA-BISKUP et al., 2012; RINAUDO, 2006), além de que análises por ressonância exigem equipamento especializado e de alto custo.

Com base nisso, a presente pesquisa teve como objetivo a determinação do grau de desacetilação da amostra de quitosana sintetizada no Laboratório de Sólidos Inorgânicos em comparação com uma amostra obtida comercialmente da marca Sigma-Aldrich®. Para isso foi utilizado método titulométrico de potenciometria com medidas de pH e de potencial e método titulométrico de condutimetria.

## **2 MATERIAIS E MÉTODOS**

Os reagentes químicos deste trabalho são de grau analítico (PA) e foram utilizados tratamento prévio, exceto quando destacado: Ácido clorídrico (HCl), Hidróxido de sódio (NaOH), Carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), Quitosana (DS- LASIR), Quitosana (Sigma-Aldrich®). A água utilizada no preparo de soluções e nas análises químicas foi obtida a partir de um destilador tipo pilsen, marca Marte e/ou deionizador por osmose reversa da marca Quimis Q342.

A procedência dos principais solventes e reagentes utilizados nesse trabalho envolve as seguintes empresas: Vetec, Synth, Sigma-Aldrich.

A coleta dos dados titulométricos pela variação de condutância foi realizada em condutivímetro Cienlab e a variação nos dados de potência e de pH foi coletada em Phmetro Quimis Q450A.

Neste trabalho foram realizadas, simultaneamente, as titulações potenciométrica e condutimétrica para amostras de quitosana comercial da marca Sigma-Aldrich e de quitosana sintetizada (DS). A titulação potenciométrica é um método volumétrico que consiste na medição da variação do potencial (mV) ou do pH entre dois eletrodos (eletrodo de referência e indicador) em função do volume do titulante adicionado. O princípio básico das titulações

potenciométricas consiste na neutralização do ácido seguida da neutralização de prótons ( $H^+$ ) dos grupos aminos presentes na molécula da quitosana (BAXTER et al., 1992). Já o princípio básico das titulações condutimétricas é a substituição de íons que têm certa condutividade, por outros íons de condutividade diferente. Tanto a titulação potenciométrica quanto a condutimétrica são métodos adotados para a medida do grau de desacetilação ( $\overline{GD}$ ) (RAYMOND et al., 1993).

A determinação do grau de desacetilação por titulação potenciométrica e condutimétrica são métodos de baixo custo e são baseados em reagentes e aparelhos acessíveis, tendo como desvantagem o tempo gasto na coleta de dados durante a titulação. O ( $\overline{GD}$ ) obtido pelo método de titulação é bastante confiável quando as soluções de HCl e NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup> são padronizadas e quando as amostras de quitosana são totalmente solúveis na solução ácida, sendo que ambas situações foram observadas neste estudo. (CZECHOWSKA-BISKUP et al., 2012; EL KNIDRI et al., 2018; YOUNES; RINAUDO, 2015)

As titulações potenciométrica e condutimétrica, para determinação do grau de desacetilação, foram realizadas simultaneamente com o intuito de testar e comparar o desempenho das técnicas de titulação. A solução aquosa de ácido clorídrico utilizada neste trabalho foi previamente padronizada com solução aquosa de carbonato de sódio 0,05 mol.L<sup>-1</sup>, já a solução aquosa de hidróxido de sódio foi previamente padronizada com a solução aquosa ácido clorídrico padronizada.

Para os processos de titulação, 0,025 g de quitosana foram dissolvidas em 5 mL de solução aquosa ácida, HCl 0,1076 mol.L<sup>-1</sup>, sob agitação constante. Em seguida, uma solução viscosa foi formada e diluída com 10 mL de água deionizada. O titulante utilizado foi uma solução básica, NaOH 0,099 mol.L<sup>-1</sup>. No decorrer da titulação manteve-se constante a agitação lenta (7rpm) e a temperatura ambiente ( $25 \pm 0,5$  °C). As variações de pH e potencial foram medidas e os dados foram coletados ao longo da titulação. Os dados coletados foram utilizados para construção das curvas de titulação: pH *versus* o volume gasto de titulante; potência (mV) *versus* o volume gasto de titulante; condutância *versus* o volume gasto de titulante. O cálculo do grau de desacetilação ( $\overline{GD}$ ) e o grau de acetilação ( $\overline{GA}$ ) foram obtidos a partir da Equação 1, apresentada abaixo.

Equação 1. Grau de desacetilação (esquerda). Grau de acetilação (direita). Ambos são valores dados em porcentagem (%).

$$\overline{GD} = \frac{16,1 \times [M_{\text{base}}] \times (V_2 - V_1) \times 100}{m} \quad \overline{GA} = 100\% - \overline{GD}$$

Sendo ( $\overline{GD}$ ) o grau médio de desacetilação; 16,1 a fração molar da quitosana relacionado ao volume em mL;  $V_1$  o volume em mL de titulante necessário para neutralização do ácido clorídrico;  $V_2$  o volume em mL de titulante gasto para neutralizar os grupos amino ácidos ( $\text{NH}_3^+$ ) presentes no polímero; ( $V_2 - V_1$ ) o volume obtido entre os dois pontos de equivalência na curva de titulação;  $M_{\text{base}}$  a molaridade da solução de NaOH (titulante),  $m$  a massa em gramas da amostra e ( $\overline{GA}$ ) o grau médio de acetilação.

Para validação estatística dos dados coletados durante a titulação e para minimizar os erros (operador, equipamento, etc) que possam ter ocorrido no experimento optou-se por utilizar o estudo das derivadas das curvas e o método dos mínimos quadrados para a titulação potenciométrica cujas medidas de pH foram coletadas e as variações de pH ( $\Delta\text{pH}$ ) foram analisadas. A projeção dos pontos obtidos na primeira derivada ( $\Delta\text{pH}/\Delta V$ ), relacionando variações de pH ( $\Delta\text{pH}$ ) e de volume de titulante ( $\Delta V$ ) foi avaliada pela formação de picos, onde os maiores picos apontam para os pontos de equivalência ( $V_1$  e  $V_2$ ), evidenciando, assim, os resultados com maior precisão. A projeção dos pontos obtidos na segunda derivada da curva, que relaciona a variação da primeira derivada [ $\Delta(\Delta\text{pH}/\Delta V)$ ], permite confirmar os pontos de equivalência.

O método dos mínimos quadrados ajusta com maior precisão o volume de titulante gasto no ponto de equivalência, na tentativa de minimizar os erros obtidos por aproximações e medidas. Utilizou-se este método para encontrar as equações da reta  $Y = aX + b$ , sendo que  $a$  e  $b$  podem ser obtidos pelos pontos máximos e mínimos indicados na projeção da segunda derivada da curva e os valores de cada ponto de equivalência podem ser obtidos pela igualdade entre as retas. Quanto melhor a equação de reta, melhor será a qualidade da curva e mais próximo de 1,0000 será o valor do coeficiente de determinação da regressão ( $R^2$ ). Conforme a literatura, o método de titulação é um método eficiente de determinação do ( $\overline{GD}$ ), sendo indispensável o tratamento de dados, como os que foram realizados neste trabalho. (MENDHAM et al., 2002; SKOOG; HOLLER; NIMAN, 2002)



Já para a curva potenciométrica, com coleta de dados pela variação do potencial (mV) e para a curva resultante da titulação condutimétrica, o tratamento dos dados foi realizado conforme o estudo das equações das retas e pelo coeficiente de determinação  $R^2$ , que indica em porcentagem, o ajuste do modelo estatístico linear da reta. (BAXTER et al., 1992; CZECHOWSKA-BISKUP et al., 2012; KUMARI et al., 2015; RAYMOND; MORIN; MARCHESSAULT, 1993)

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A determinação do ( $\overline{GD}$ ) foi realizada para a amostra de quitosana comercial e quitosana sintetizada (DS) por titulação potenciométrica (pH e mV) e titulação condutimétrica. Os dados obtidos na titulação potenciométrica com medidas de pH estão descritos na Tabela 2 e fazem referência às curvas de pH e às curvas da primeira e segunda derivadas, representadas nas Figuras 2 e 3, para a quitosana comercial (Sigma-Aldrich) e quitosana sintetizada (DS), respectivamente.

Tabela 2. Dados obtidos na titulação potenciométrica (pH).

Quitosan a	Massa (g)	Valores de pH				Primeira derivada ( $\Delta pH/\Delta V$ )				Segunda derivada $\Delta (\Delta pH/\Delta V)$			
		$V_1$	$V_2$	$V_2 - V_1$	% $\overline{GD}$	$V_1$	$V_2$	$V_2 - V_1$	% $\overline{GD}$	$V_1$	$V_2$	$V_2 - V_1$	% $\overline{GD}$
Comercial	0,0200	4,6	5,6	1,0	79,7	4,6	5,6	1,0	79,7	4,8	5,8	1,0	79,7
DS	0,0210	4,8	5,8	1,0	75,9	4,8	5,8	1,0	75,9	4,8	5,8	1,0	75,9

$V_1$  = ponto de equivalência para a titulação da solução ácida, dado em mL.

$V_2$  = ponto de equivalência para a neutralização dos grupos amino protonados da quitosana, dado em mL.



Figura 2. Curva de titulação potenciométrica (pH) para a quitosana comercial.

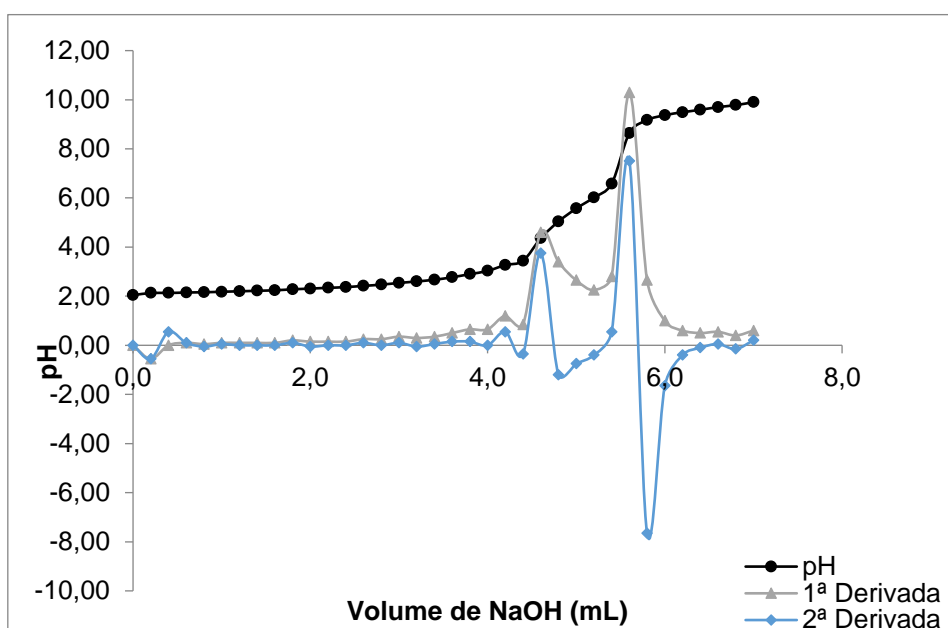
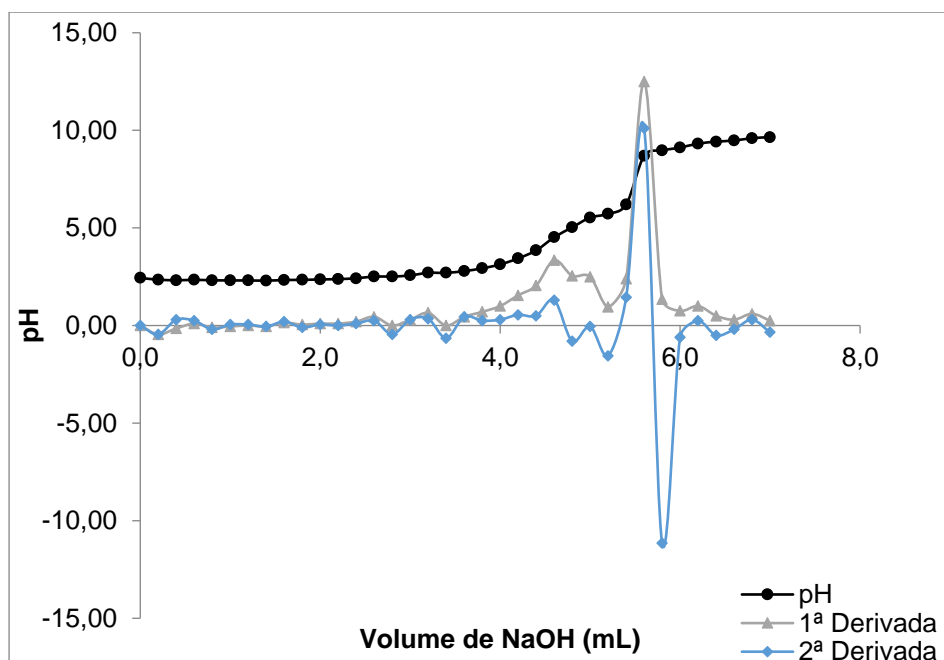


Figura 3. Curva de titulação potenciométrica (pH) para a quitosana sintetizada (DS).



A projeção dos pontos obtidos na primeira derivada demonstra picos, onde os maiores picos apontam diretamente para os pontos de equivalência ( $V_1$  e  $V_2$ ), assim é possível perceber que esta projeção confirmou os volumes gastos para os dois pontos de equivalência obtidos na

curva de pH para ambas as amostras de quitosana comercial e quitosana sintetizada (DS). Como consequência, a diferença entre eles ( $V_2 - V_1$ ), utilizada na Equação 1 para calcular o ( $\overline{GD}$ ) não variou para os dados obtidos nas medidas de pH e os dados obtidos pelo tratamento com as derivadas (Tabela 2). No entanto, os pontos obtidos na segunda derivada são os valores que resultam em maior precisão, sendo que os pontos de equivalência correspondem aos valores exatos que cruzam a abscissa (Volume de NaOH), considerando os maiores picos.

Na Tabela 3 constam os dados obtidos, aplicando o método dos mínimos quadrados, a partir dos dados dos pontos de equivalência referentes às curvas da segunda derivada. As equações da reta  $Y = aX + b$  foram obtidas, sendo que  $a$  e  $b$  podem ser obtidos pelos pontos máximos e mínimos indicados nas curvas da 2ª derivada e assim calcular o valor de  $x$  quando cruza o eixo da abscissa ( $y = 0$ ), que será exatamente o volume gasto em cada ponto de equivalência (MENDHAM et al., 2002; SKOOG; HOLLER; NIMAN, 2002).

Tabela 3. Dados obtidos pela aplicação do método dos mínimos quadrados.

Quitosana	Método dos mínimos quadrados [ $\Delta(\Delta pH/\Delta V)$ ]					
	Equação da reta <sub>1</sub>	$V_1$	Equação da reta <sub>2</sub>	$V_2$	$V_2 - V_1$	% $\overline{GD}$
Comercial	$Y = -24,75X + 117,6$	4,751	$Y = -76,5X + 443,6$	5,799	1,028	83,52
DS	$Y = -10,5X + 49,36$	4,701	$Y = -107,25X + 611,86$	5,705	1,004	76,20

$V_1$  = ponto de equivalência para a titulação da solução ácida, dado em mL.

$V_2$  = ponto de equivalência para a neutralização dos grupos amino protonados da quitosana, dado em mL.

Fazendo uso das informações sobre os pontos de equivalência e a diferença entre eles ( $V_2 - V_1$ ) que constam nas Tabelas 2 e 3, o cálculo do grau de desacetilação ( $\overline{GD}$ ) foi realizado conforme Equação 1. A partir disso, como dado mais preciso, a partir do tratamento de dados, pode-se citar o valor de 83,53% e 76,20%, para as amostras de quitosana comercial e sintetizada (DS), respectivamente, na Tabela 3.

Os valores determinados para a amostra de quitosana comercial estão de acordo com a ficha de especificação do produto de médio grau de desacetilação ( $\overline{GD}$ ), entre 75% e 85% (SIGMA-ALDRICH, 2019). Assim, a quitosana sintetizada (DS) apresenta ( $\overline{GD}$ ) de acordo com o valor determinado para uma amostra comercial da marca Sigma-Aldrich® e semelhante a resultados apontados na literatura, obtidos a partir de titulação potenciométrica, como 79,80% (ZVEZDOVA, 2010), 61% (KUMARI et al., 2015) e 64% (COCOLETZI et al., 2009).

A titulação potenciométrica com medida da potência (mV) para as amostras de quitosana comercial e sintetizada (DS) foi realizada simultaneamente com a titulação potenciométrica (pH) e pode ser observada através da Figura 4. Na titulação potenciométrica (mV), bem como na titulação potenciométrica (pH), o primeiro ponto de inflexão corresponde à neutralização do ácido clorídrico da solução ( $V_1$ ) e o segundo ponto de inflexão se refere à neutralização de prótons do grupo amino protonados presentes na molécula da quitosana ( $V_2$ ). Assim, foram evidenciando dois pontos de inflexão em cada curva que, por sua vez, geram três retas e três equações de reta, para cada amostra, evidenciadas na Tabela 4.

Figura 4. Curvas de titulação potenciométrica (mV).

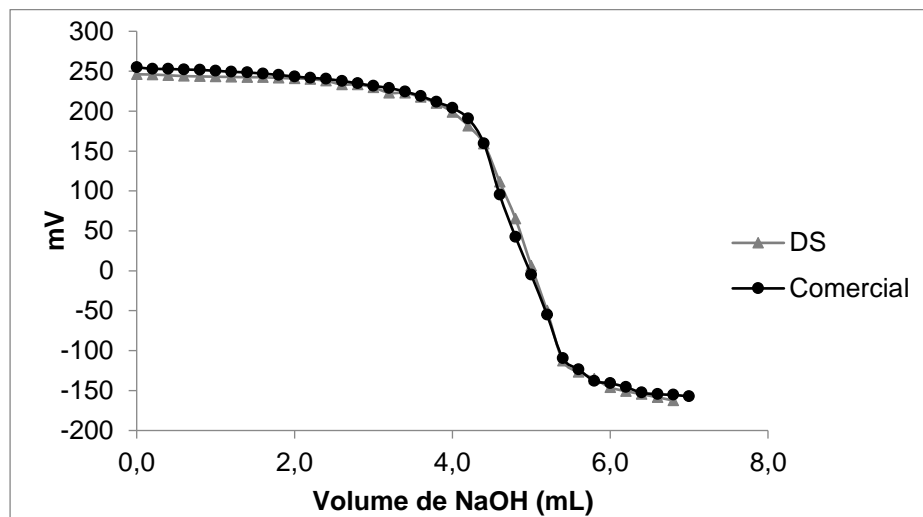


Tabela 4. Equações das retas para as curvas de titulação potenciométrica (mV).

Quitosana Comercial		Quitosana DS	
Equação das retas	R <sup>2</sup>	Equação das retas	R <sup>2</sup>
$Y_1 = -2,1919X + 263,25$	0,8779	$F(X) = -2,2404X + 147,35$	0,7318
$Y_2 = -223,59X + 1271,5$	0,9969	$F(X) = -269,41X + 1361,10$	0,9967
$Y_3 = -4,4405X - 50,84$	0,8838	$F(X) = -5,1452X - 103,95$	0,9309

Pelo estudo das equações das retas, ao igualarmos  $Y_1 = Y_2$  o X equivale ao volume de titulante utilizado para neutralizar o ácido clorídrico da solução, ou seja,  $V_1$ ; e ao igualar  $Y_2 = Y_3$  o valor de X corresponde ao volume de titulante utilizado para neutralizar os grupos aminos protonados, ou seja,  $V_2$ . O estudo das equações das retas permite determinar os pontos de

equivalência com maior precisão do que pela variação percebida nos dados ao longo da projeção da curva ou visivelmente no gráfico (RAYMOND; MORIN; MARCHESSAULT, 1993). Com a obtenção dos valores de  $V_1$  e  $V_2$  é possível calcular o  $(\overline{GD})$ , fazendo uso da Equação 1 (Tabela 5).

Tabela 5. Dados obtidos na curva de titulação potenciométrica (mV) e no estudo das três equações de reta.

Quitosa na	Massa (g)	Curva (mV)		potenciométrica			Estudo das equações de reta			
		$V_1$	$V_2$	$\frac{V_2}{V_1}$	-	$\% \overline{GD}$	$V_1$	$V_2$	$V_2 - V_1$	$\% \overline{GD}$
Comercial	0,020	4,4	5,4	1,0		79,70	4,55 2	5,57 1	1,019	81,21
DS	0,021	4,4	5,4	1,0		75,90	4,54 2	5,54 4	1,002	75,98

$V_1$  = ponto de equivalência para a titulação da solução ácida, dado em mL.

$V_2$  = ponto de equivalência para a neutralização dos grupos amino protonados da quitosana, dado em mL.

A Tabela 5 apresenta o  $(\overline{GD})$  para amostras de quitosana comercial e quitosana sintetizada (DS), indicando valores muito semelhantes entre si. Um ajuste no  $(\overline{GD})$  da amostra comercial foi observado, de 79,70% para 81,21%, utilizando o estudo das equações de reta. Já para a amostra sintetizada (DS), o  $(\overline{GD})$  foi ajustado de 75,90% para 75,98%.

Alguns autores compararam resultados do  $(\overline{GD})$  obtidos por titulação potenciométrica aos obtidos por Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN  $^1H$ ). Através destas análises comparativas, observaram que não houve diferenças entre os métodos. O  $(\overline{GD})$  descrito pelos autores variou entre 78% e 92% (CZECHOWSKA-BISKUP et al., 2012; RINAUDO, 2006). Assim, a titulação potenciométrica, seja por medidas de pH ou de pulso (mV), pode ser considerado um método simples, barato e bastante confiável para a determinação do  $(\overline{GD})$  de amostras de quitosana.

Por último, e concomitante às demais titulações, foi realizada a titulação condutimétrica para as amostras de quitosana comercial e DS. Na Figura 5 podem ser observados os dois pontos de inflexão ( $V_1$  e  $V_2$ ), que representam dois ramos lineares de neutralização do ácido presente na solução ( $V_1$ ) e de neutralização de prótons dos grupos amino protonados da quitosana ( $V_2$ ). O terceiro ramo linear refere-se ao excesso de solução básica de titulante adicionado após o ponto de equivalência. (RAYMOND; MORIN; MARCHESSAULT, 1993). Estas três retas originaram equações de reta apresentadas na Tabela 6.

O estudo das equações de reta foi usado na obtenção de dados mais precisos, sendo idêntico ao detalhado anteriormente na titulação potenciométrica (mV), onde na igualdade entre  $Y_1 = Y_2$  obtém-se o X equivalente ao volume de titulante utilizado para neutralizar o ácido clorídrico da solução, ou seja,  $V_1$ ; e na igualdade entre  $Y_2 = Y_3$ , o valor de X corresponde ao volume de titulante utilizado para neutralizar os grupos aminos protonados, ou seja,  $V_2$  (RINAUDO; MILAS; LE DUNG, 1993).

Figura 2. Curva de titulação condutimétrica.

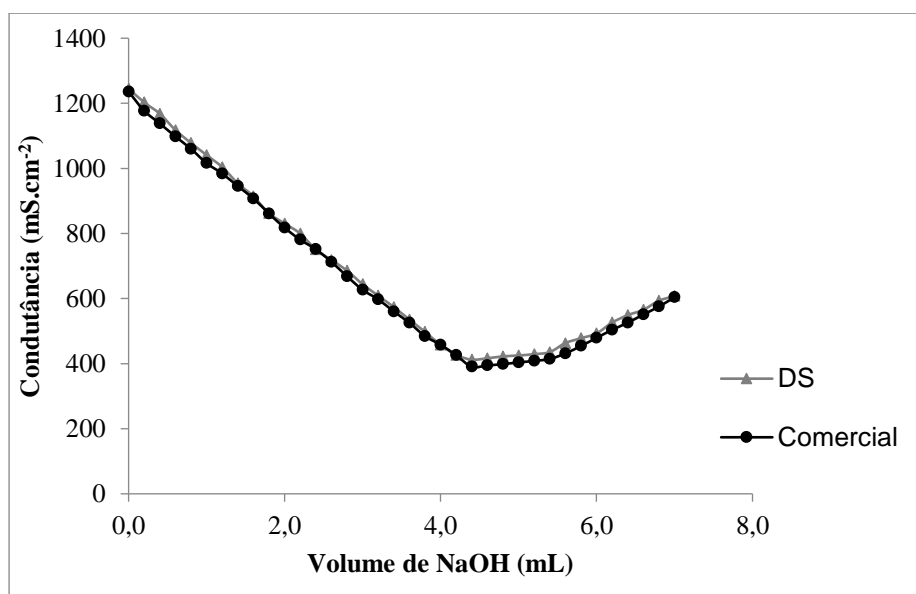


Tabela 6. Equações de reta para as curvas de titulação condutimétrica.

Quitosana Comercial		Quitosana DS	
Equação de reta	R <sup>2</sup>	Equação de reta	R <sup>2</sup>
$Y_1 = -191,87X + 1232,14$	0,9988	$Y_1 = -195,49X + 1297,22$	0,9988
$Y_2 = 22,55X + 290,90$	0,9965	$Y_2 = 107,25X - 151,28$	0,9921
$Y_3 = 119,28X - 235,25$	0,9982	$Y_3 = 22,343X + 322,42$	0,9908

Com a obtenção dos valores de  $V_1$  e  $V_2$ , procedeu-se com o cálculo do  $(\overline{GD})$ , conforme Equação 1, apresentados na Tabela 7, que mostram um ajuste no dado obtido na curva condutimétrica após o estudo das equações de reta, resultando em um aumento no  $(\overline{GD})$  de 79,70% para 83,54% para a quitosana comercial e de 75,90% para 76,19% para a quitosana sintetizada (DS).

A quitosana sintetizada (DS) está de acordo com a amostra comercial e com os resultados que estão apontados na literatura para determinação do grau de desacetilação por titulação condutimétrica, entre eles, 76,50 % (FRICK et al., 2018) e 79,80 % (ZVEZDOVA, 2010).

Tabela 7. Dados obtidos na curva de titulação condutimétrica e no estudo das equações de reta.

Quitosa a	Massa (g)	Curva condutimétrica					Estudo das equações de reta				
		V <sub>1</sub>	V <sub>2</sub>	V <sub>2</sub> V <sub>1</sub>	–	% $\overline{GD}$	V <sub>1</sub>	V <sub>2</sub>	V <sub>2</sub> V <sub>1</sub>	–	% $\overline{GD}$
Comercial	0,020	4,4	5,4	1,0		79,70	4,38 7	5,43 9	1,052		83,54
DS	0,021	4,4	5,4	1,0		75,90	4,57 5	5,57 9	1,002		76,19

V<sub>1</sub> = ponto de equivalência para a titulação da solução ácida, dado em mL.

V<sub>2</sub> = ponto de equivalência para a neutralização dos grupos amino protonados da quitosana, dado em mL.

Ao comparar as metodologias realizadas, observa-se que todas as titulações potenciométrica (pH e mV) e condutimétrica geraram dados semelhantes entre si e que foram tratados, resultando, assim, na determinação do grau de desacetilação ( $\overline{GD}$ ) com maior exatidão. Diante disso, a Tabela 8 apresenta um comparativo dos dados ( $\overline{GD}$ ) obtidos.

Tabela 8. Dados comparativo do grau de desacetilação ( $\overline{GD}$ ) obtido pelos diferentes métodos titulométricos.

Quitosana	Potenciometria		Condutimetria
	pH	(mV)	(mS.cm <sup>-1</sup> )
Comercial	83,52±0,010%	81,21±2,32%	83,54±0,010%
DS	76,20±0,005%	75,98±0,22%	76,19±0,005%

A análise estatística dos dados da Tabela 8 indicou que a análise potenciométrica com coleta de dados em (mV) apresentou menor precisão, o que pôde ser evidenciado pelo estudo das retas (Tabela 4) que mostrou valores de R<sup>2</sup> mais distantes de 1,000 do que os valores obtidos para a titulação condutimétrica (Tabela 6), o que também pode ser corroborado pelos maiores valores de desvio médio observados para a titulação potenciométrica com medida de potência (mV). Estes dados podem ter referência a instabilidades no equipamento de medida em mV ou até mesmo em erros do manipulador (MENDHAM et al., 2002; SKOOG; HOLLER; NIMAN, 2002).

Logo é possível perceber que a análise potenciométrica (pH) e a análise condutimétrica tiveram uma maior acuidade a partir do tratamento estatístico. Assim, foi feita a escolha dos

dados obtidos pelo método potenciométrico (pH) como adequados, além disso, este método foi escolhido como método a ser adotado em análises futuras em nosso grupo de trabalho. Esta escolha se deve ao fato deste tipo de titulação exigir um equipamento simples de medida de pH e ter evidenciado dados satisfatórios nas análises descritas neste trabalho, com  $(\overline{GD})$  de 83,52% para quitosana comercial e com  $(\overline{GD})$  de 76,20% para quitosana sintetizada (DS). Vale ressaltar que a quitosana comercial utilizada como referência neste trabalho é uma amostra com médio  $(\overline{GD})$  entre 75% e 85% (SIGMA-ALDRICH, 2019), o que foi comprovado pela análise realizada.

O grau médio de desacetilação (76,20%) obtido para a quitosana sintetizada permite evidenciar importantes parâmetros relativos às suas propriedades físicas e químicas, como solubilidade e viscosidade. A solubilidade da quitosana em meio ácido é atribuída à presença de grupos amino protonados na estrutura polimérica, resultando em cargas positivas distribuídas ao longo da cadeia, sendo que quanto maior a quantidade de cargas presentes na cadeia, maior sua solubilidade (AL-MANHEL; AL-HILPHY; NIAMAH, 2018; KUMARI et al., 2015; YOUNES; RINAUDO, 2015). Assim, quanto maior o  $(\overline{GD})$ , maior será a quantidade de grupos amino na estrutura polimérica e melhor será sua solubilidade em soluções ácidas.

No entanto, é necessário considerar que o aumento do  $(\overline{GD})$  acarreta em diminuição da massa molecular do polímero, justificada pelas condições drásticas empregadas no processo de desacetilação, isto é, na substituição dos grupos acetamida por grupos amina (AL-MANHEL; AL-HILPHY; NIAMAH, 2018; KUMARI et al., 2015; SIGMA-ALDRICH, 2019; YOUNES; RINAUDO, 2015). O mesmo foi observado neste trabalho, ao comparar os valores de  $(\overline{GD})$  de 83,52%, para a quitosana comercial, com sua massa molar média viscosimétrica  $(\overline{M}_V)$  de 176,6 - 245,2 kDa e o  $(\overline{GD})$  de 76,20%, para a quitosana sintetizada (DS), com sua  $(\overline{M}_V)$  de 108,30 - 111,41 kDa. Vale ressaltar que os valores  $(\overline{M}_V)$  são dados já determinados pelo nosso grupo de trabalho para as duas amostras em questão. Assim, a quitosana sintetizada (DS) no Laboratório de Sólidos Inorgânicos (LASIR) apresentou menor grau de desacetilação  $(\overline{GD})$ , no entanto maior massa molar quando comparado à amostra comercial, sendo que ambas as amostras estão de acordo com a literatura para amostras de quitosana com grau médio de desacetilação.



**4 CONCLUSÕES**

O grau de desacetilação ( $\overline{GD}$ ) é um dos principais parâmetros junto a massa molar viscosimétrica que definem o grau de qualidade de uma amostra de quitosana, pois afetam diretamente as propriedades físicas, químicas e biológicas interferindo assim, na escolha das possíveis aplicações das amostras de quitosana.

A determinação do grau de desacetilação a partir dos três métodos adotados neste estudo, isto é, por titulação potenciométrica (mV e pH) e condutimétrica, evidenciaram resultados satisfatórios conforme a literatura, além de representarem análises de baixo custo e que fazem uso de equipamentos e reagentes acessíveis. No entanto, a titulação potenciométrica (pH) foi adotada como método para caracterização de amostras de quitosana no LASIR, visto que teve uma maior acuidade no tratamento estatístico, que minimizou eventuais erros (operador, equipamento, etc) que possam ter ocorrido durante a titulação.

A quitosana sintetizada (DS) no Laboratório de Sólidos Inorgânicos (LASIR) apresentou um excelente grau médio de desacetilação ( $\overline{GD}$ ), além de ser prontamente solúvel em meios aquosos levemente ácidos, como esperado para amostras de quitosana de qualidade. Os valores de ( $\overline{GD}$ ) de  $76,20 \pm 0,005\%$  para a quitosana sintetizadas (DS) e  $83,52 \pm 0,01\%$  para a quitosana comercial, obtidos por titulação potenciométrica com medidas em pH, seguido de tratamento estatístico, representam valores satisfatórios frente ao que vem sendo relatado na literatura e na ficha técnica de amostras de quitosana comercial.

**REFERÊNCIAS**

- ABDULKARIM, A. et al. Extraction and Characterization of Chitin and Chitosan from Mussel Shell. **Natural Products Chemistry & Research**, v. 3, n. 2, p. 108–114, 2013. <https://www.researchgate.net/publication/280520739>
- AL-MANHEL, A. J.; AL-HILPHY, A. R. S.; NIAMAH, A. K. Extraction of chitosan, characterisation and its use for water purification. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 17, n. 2, p. 186–190, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2016.04.001>
- BAXTER, A. et al. Improved method for I.R. determination of the degree of acetylation of chitosan. **Int. J. Biol. Macromol.**, v. 14, p. 166–169, 1992. [https://doi.org/10.1016/S0141-8130\(05\)80007-8](https://doi.org/10.1016/S0141-8130(05)80007-8)
- COCOLETZI, H. H. et al. Obtención y caracterización de quitosano a partir de exoesqueletos
- 
- Braz. J. of Develop., Curitiba, v. 6, n. 1, p.4066-4084 jan. 2020. ISSN 2525-8761

de camarón. **Superficies y Vacío**, v. 22, n. 3, p. 57–60, 2009.  
[http://smcsyv.fis.cinvestav.mx/supyvac/22\\_3/SV2235709.pdf](http://smcsyv.fis.cinvestav.mx/supyvac/22_3/SV2235709.pdf)

CZECHOWSKA-BISKUP, R. et al. Determination of Degree of Deacetylation of Chitosan - Comparaison of Methods. **Progress on chemistry and application of chitin and its derivatives**, v. 17, p. 5–20, 2012.  
<https://journals.indexcopernicus.com/search/article?articleId=90457>

DEMITRI, C. et al. Nanostructured active chitosan-based films for food packaging applications: Effect of graphene stacks on mechanical properties. **Measurement: Journal of the International Measurement Confederation**, v. 90, p. 418–423, 2016.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.measurement.2016.05.012>

EL KNIDRI, H. et al. Extraction, chemical modification and characterization of chitin and chitosan. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 120, p. 1181–1189, 2018.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.08.139>

ESCOBAR-SIERRA, D. M. et al. Manufacturing and evaluation of Chitosan, PVA and Aloe Vera hydrogels for skin applications. **DYNA**, v. 84, n. 203, p. 134–142, 2017.  
<https://doi.org/10.15446/dyna.v84n203.62742>

FRICK, J. M. et al. Influence of Glutaraldehyde Crosslinking and Alkaline Post-treatment on the Properties of Chitosan-Based Films. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 26, n. 7, p. 2748–2757, 2018. <http://dx.doi.org/10.1007/s10924-017-1166-3>

GEROMEL-COSTA, C. G. A. et al. Adsorption of metals by crosslinked chitosan beads in sugarcane contaminated streams. **Biomass and Bioenergy**, v. 119, n. September, p. 128–134, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.09.019>

HOMEZ-JARA, A. et al. Characterization of chitosan edible films obtained with various polymer concentrations and drying temperatures. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 113, p. 1233–1240, 1 jul. 2018.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.057>

HUSSEIN, M. H. M. et al. Preparation of Some Chitosan Heavy Metal Complexes and Study of Its Properties 1. **Natural Polymers**, v. 54, n. 2, p. 113–124, 2012.  
<https://doi.org/10.1134/S0965545X12020046>

KUMARI, S. et al. Extraction and characterization of chitin and chitosan from fishery waste by chemical method. **Environmental Technology and Innovation**, v. 3, p. 77–85, 2015.  
<https://doi.org/10.1016/j.eti.2015.01.002>

KUMIRSKA, J. et al. Application of spectroscopic methods for structural analysis of chitin

- and chitosan. **Marine Drugs**, v. 8, n. 5, p. 1567–1636, 2010. <https://doi.org/10.3390/md8051567>
- KYZAS, G. Z.; KOSTOGLU, M. Swelling-adsorption interactions during mercury and nickel ions removal by chitosan derivatives. **Separation and Purification Technology**, v. 149, p. 92–102, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.seppur.2015.05.024>
- MENDHAM, J. et al. **Análise Química Quantitativa**. 6. ed. Rio de Janeiro, RJ: LTC, 2002.
- MOHAMMADZADEH PAKDEL, P.; PEIGHAMBARDoust, S. J. Review on recent progress in chitosan-based hydrogels for wastewater treatment application. **Carbohydrate Polymers**, v. 201, p. 264–279, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.08.070>
- MORAN, H. B. T. et al. Immunomodulatory properties of chitosan polymers. **Biomaterials**, v. 184, p. 1–9, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2018.08.054>
- MUJTABA, M. et al. Current advancements in chitosan-based film production for food technology ; A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 121, p. 889–904, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.10.109>
- MUXIKA, A. et al. Chitosan as a bioactive polymer: Processing , properties and applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 105, p. 1358–1368, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.07.087>
- RAYMOND, L.; MORIN, F. G.; MARCHESSAULT, R. H. Degree of deacetylation titration and solid-state of chitosan using conductometric NMR. **Carbohydrate Research**, v. 246, p. 331–336, 1993. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(93\)84044-7](https://doi.org/10.1016/0008-6215(93)84044-7)
- RINAUDO, M. Chitin and chitosan: Properties and applications. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, v. 31, n. 7, p. 603–632, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001>
- RINAUDO, M.; MILAS, M.; LE DUNG, P. Characterization of chitosan. Influence of ionic strength and degree of acetylation on chain expansion . **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 15, p. 281–285, 1993. [https://doi.org/10.1016/0141-8130\(93\)90027-J](https://doi.org/10.1016/0141-8130(93)90027-J)
- ROBERTS, G. A. F. **Chitin Chemistry**. London, UK: Macmillan Press Ltd, 1982.
- ROY, J. C. et al. Solubility of Chitin: Solvents, Solution Behaviors and Their Related Mechanisms. In: **Solubility of Polysaccharides**. [s.l.: s.n.]. p. 20. <https://doi.org/10.5772/intechopen.71385>
- SIGMA-ALDRICH. Quitosana da casca de camarão com peso molecular médio. Disponível em: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/448877>. Acesso em: 13 jan. 2020.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5. ed. São Paulo, SP: Bookman, 2002.

WANG, M. et al. The green adsorption of chitosan tripolyphosphate nanoparticles on cotton fiber surfaces. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, n. 1, p. 812–818, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.10.023>

WANG, X. et al. Preparation of pure chitosan film using ternary solvents and its super absorbency. **Carbohydrate Polymers**, v. 153, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.07.081>

YOUNES, I.; RINAUDO, M. Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. **Marine Drugs**, v. 13, n. 3, p. 1133–1174, 2015. <http://dx.doi.org/10.3390/md13031133>

ZENG, D.; LUO, X.; TU, R. Application of Bioactive Coatings Based on Chitosan for Soybean Seed Protection. **International Journal of Carbohydrate Chemistry**. v. 2012, 2012. <http://dx.doi.org/10.1155/2012/104565>

ZENG, L. et al. Adsorption of Cd ( II ), Cu ( II ) and Ni ( II ) ions by cross-linking chitosan/rectorite nano-hybrid composite microspheres. **Carbohydrate Polymers**, v. 130, p. 333–343, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.05.015>

ZVEZDOVA, D. Synthesis and characterization of chitosan from marine sources in. **Synthesis and characterization of chitosan from marine sources in Black Sea**, v. 3, n. 1, p. 65–69, 2010. <https://conf.uni-ruse.bg/bg/docs/cp10/9.1/9.1-11.pdf>